

学校编码: 10384

分类号_____ 密级_____

学号: 24520131153471

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

类固醇受体辅激活因子 3 在动脉粥样硬化
中的作用

The Role of Steroid Receptor Coactivator 3 in
Atherosclerosis

苏 强

指导教师姓名: 李卫华 教授

专 业 名 称: 内科学

论文提交日期: 2016 年 月

论文答辩日期: 2016 年 月

学位授予日期: 2016 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2016 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目 录

摘要.....	I
Abstract.....	II
第一章 前言.....	1
1.1 核受体.....	1
1.1.1 核受体的结构.....	1
1.1.2 核受体的调节.....	2
1.2 SRC 家族及其生物学特性.....	3
1.2.1 SRC 家族的分类.....	3
1.2.2 SRC 基因结构.....	4
1.2.3 SRC 蛋白的修饰.....	5
1.3 SRC-3 的生物学性质.....	7
1.3.1 SRC-3 与肿瘤.....	7
1.3.2 SRC-3 与炎症.....	8
1.3.3 SRC-3 与机体代谢.....	8
1.4.动脉粥样硬化(AS).....	9
1.4.1 脂质代谢紊乱学说.....	10
1.4.2 内皮损伤学说.....	10
1.4.3 炎症反应学说.....	11
1.5 立题背景.....	14
第二章 材料与方法.....	15
2.1 实验材料.....	15
2.1.1 小鼠、细胞、菌株.....	15
2.1.2 主要试剂盒.....	15
2.1.3 主要工具酶和抗体.....	16
2.1.4 主要试剂及耗材.....	16
2.1.5 主要实验仪器.....	17
2.2 实验方法.....	18
2.2.1 分子克隆相关实验及方法.....	18

2.2.2 组织蛋白的提取, 蛋白质的 SDS-PAGE 电泳及 Western blotting 分析	22
2.2.3 细胞实验	23
2.2.4 小鼠相关实验及方法	25
第三章 结果与分析	31
3.1 SRC-3 缺陷小鼠动脉粥样硬化程度相对较轻	31
3.1.1 SRC-3 蛋白在动脉粥样硬化中高表达	31
3.1.2 APOE ^{-/-} SRC-3 ^{-/-} 小鼠体重、心脏及肝脏重量较 APOE ^{-/-} SRC-3 ^{+/+} 小鼠轻	32
3.1.3 APOE ^{-/-} SRC-3 ^{-/-} 小鼠主动脉粥样硬化斑块较 APOE ^{-/-} SRC-3 ^{+/+} 小鼠少	33
3.1.4 APOE ^{-/-} SRC-3 ^{-/-} 小鼠肝脏脂肪堆积比 APOE ^{-/-} SRC-3 ^{+/+} 小鼠少	35
3.2 SRC-3 显著增加巨噬细胞向泡沫细胞转化	36
3.2.1 SRC-3 加速原代腹腔巨噬细胞转变成泡沫细胞	36
3.2.2 敲低细胞内 SRC-3 能使巨噬细胞泡沫化减轻	37
3.3 炎症反应在动脉粥样硬化的作用	38
3.3.1 双敲小鼠循环血液中 TNF- α 和 IL-1 β 细胞因子明显低于 APOE ^{-/-} 小鼠	38
第四章 讨论	40
参考文献	42
致谢	51

CONTENT

Abstract(In Chinese)	I
Abstract(In English)	II
Chapter I Introduction	1
1.1Nuclear Receptor	1
1.1.1 The structure of nuclear receptor.....	1
1.1.2 The regulation of nuclear receptor	2
1.2 The SRC family and biological characteristics	3
1.2.1 Classify of SRC.....	3
1.2.2 The genetic of SRC	4
1.2.3 SRC modification	5
1.3 Biological characteristics of SRC-3	7
1.3.1 Relationship between SRC-3 and cancer.....	7
1.3.2 Relationship between SRC-3 and inflammation	8
1.3.3 Relationship between SRC-3 and metabolism	8
1.4 Atherosclerosis	9
1.4.1 Lipid metabolism disorder	10
1.4.2 Endothelium injury.....	10
1.4.3 Inflammation.....	11
1.5 Aim of research	14
Chapter II Materials and Methods	15
2.1 Materials	15
2.1.1 Mouse,cells and Bacteria	15
2.1.2 Kits.....	15
2.1.3 Enzymes and Antibodies	16
2.1.4 Reagents and supplies.....	16
2.1.4 Reagents and supplies.....	17
2.2 Methods	18
2.2.1 Molecular cloning.....	18

2.2.2 Protein extraction and Western blotting	22
2.2.3 Cells experiments.....	23
2.2.4 Mouse experiments.....	25
Chapter III Results and analysis	31
3.1 Less atherosclerosis SRC-3 knotout mouse	31
3.1.1 SRC-3 up-regulated in atherosclerosis.....	31
3.1.2 Double knotout mouse lighter than APOE-/- SRC-3+/+ mouse in body weight,liver and heat	32
3.1.3 Less atherosclerosis double knotout mouse	33
3.1.4 Double knotout mouse less lipid accumulated in liver	35
3.2 SRC-3 accelareted macrophage to be a foam cell	36
3.2.1 SRC-3 accelareted peritoneal macrophage to be a foam cell	36
3.2.2 Knotdown SRC-3 release macrophage to be a foam cell	37
3.3 Inflammation in atherosclerosis	38
3.3.1 Serum TNF- α and IL-1 β lower than APOE-/- mouse	38
Chapter IV Discusion	40
References.....	42
Acknowledgement.....	51

摘 要

目的：动脉粥样硬化是动脉壁对炎症的损伤性反应，是多种细胞及因子相互作用的结果，但目前的发病机制仍不清楚。血管内皮损伤、脂质代谢紊乱、炎症反应在其发生发展中都扮演重要角色。类固醇受体辅激活因子 3 不仅能抑制甘油三酯向肝外转运，而且在炎症应答中扮演着重要角色，目前 SRC-3 在动脉粥样硬化中的研究还未曾报道，我们的研究旨在揭开 SRC-3 对动脉粥样硬化的影响的具体机制。**方法：**确定动脉粥样斑块的血管 SRC-3 表达量增高后，我们获取 APOE^{-/-}、SRC-3^{-/-} 敲除小鼠和 APOE^{-/-}、SRC-3^{+/+} 小鼠，通过高脂饲料建立动脉粥样硬化模型，利用病理染色、血脂及炎症因子的测定，从动物水平上阐明 SRC-3 对动脉粥样硬化的影响；同时建立稳定细胞株，利用 ox-LDL 刺激细胞，利用油红“O”染色计算泡沫细胞的比例，在细胞水平证明 SRC-3 在动脉粥样硬化中的作用。**结果：**动脉粥样硬化血管 SRC-3 表达量升高；敲除 SRC-3 的小鼠高脂喂养 12 周后动脉粥样斑块面积，甘油三酯和血清中 TNF- α 、IL-1B 的含量小于 WT 组；稳定敲低 SRC-3 的 RAW 264.7 细胞泡沫化程度轻于正常组。**结论：**SRC-3 在高血脂情况下通过促进炎症反应可以推动动脉粥样硬化。

关键字：动脉粥样硬化；SRC-3；炎症反应

Abstract

Objective: Atherosclerosis is an injury-response to inflammation in the arterial wall. It is the result of the interaction of many kinds of cells and cytokines. Vascular endothelial injury, disorder of lipid metabolism and inflammatory reaction play an important role in the development of its occurrence and development. Steroid receptor coactivator-3 not only inhibits triglyceride to extrahepatic transportation, but also plays an important role in the inflammatory response. Currently, any report about SRC-3 effected atherosclerosis was not checked out. Our study aims to uncover the effects of SRC-3 on atherosclerosis of mechanism. **Methods:** when determined the atherosclerotic plaques in the vascular up-regulate the expression of SRC-3, we obtained APOE^{-/-} SRC-3^{-/-} double knockout mice and APOE^{-/-} SRC-3^{+/+} mice, established atherosclerotic model by high fat feed. Through pathological staining, lipid and inflammatory factor determination in serum, we illuminate the effect of SRC-3 effected atherosclerosis in animal level; and then, we established the stable knockdown cell, stimulated by ox-LDL, using oil red staining, we found that the proportion of foam cells was less than normal cell. This explained SRC-3 accelerated macrophage to foam cells. **Results:** In atherosclerotic plaque, SRC-3 was up-regulated; knockout SRC-3 mice less formulated atherosclerosis after fed with high fat for 12 weeks, and the concentration of triglyceride and serum levels of TNF- α , IL-1B were less than WT group; stable knockdown SRC-3 cell foamed to a lesser degree than in normal group. **Conclusion:** SRC-3 can promote atherosclerosis by speeding inflammatory reaction in Hypercholesterolemia.

Key Words: atherosclerosis; SRC-3; inflammation

第一章 前言

1.1 核受体

1.1.1 核受体的结构

核受体(nuclear receptor)是与类固醇激素受体同源的一类配体依赖性转录超家族因子。胚胎的发育,内环境的稳态,免疫反应,细胞的分化甚至肿瘤的发生与发展都可归因于核受体与相应配体及各种辅调节因子相互作用的协调表达结果^[1]。与此同时,核受体能够结合经药物设计而被修饰的小分子,从而调控相关疾病如代谢综合征、癌症、骨质疏松、肥胖、糖尿病等对药物的治疗反应,并参与一大类物质,如药物、致癌物质、食品添加剂、污染物、环境化学药品以及内源性物质的体内转化过程^[2],核受体超家族根据配体的类型可分为三类:1)类固醇类激素受体,也称 I 型核受体,包括糖皮质激素受体(Glucocorticoid receptor,GR)、盐皮质激素受体(mineralocorticoid receptor,MR)、雌激素受体(Estrogen receptor,ER)、孕酮受体(Progesterone receptor,PR)及雄激素受体(Androgen receptor,AR)等;2)非固醇类激素受体,又称 II 型核受体,包括甲状腺激素受体(Thyroid hormone receptor,TR)、维甲酸受体(Retinoic acid receptor,RAR)、维生素 D3 受体(Vitamin D receptor,VDR)和肝 X 受体(Liver X receptor,LXR)、蜕皮激素受体(ecdysone receptor,EcR)等;3)孤儿受体(Orphan receptor),结构式与核受体超家族成员相似,但目前未找到它的配体,如:过氧化物酶体增殖因子活化受体(Peroxisome proliferator-activated receptor,PPAR)、类固醇生成因子 1(SF-1)、非生长因子诱导受体(nerve growth factor-induced receptor,NGFI)等^[3,4]。核受体家族通常有相近的分子结构,主要分为 3 部分(见图 1):N 端配体依赖的反式激活区域,结合特定激素产生应答的中间高度保守的 DNA 结合域,和二聚体结合区域,C 端保守区。中间的 DNA 结合域(DBD)有 66 个氨基酸,包括 2 个锌指结构,其中 4 个高度保守的丝氨酸残基,它是 Zn^{2+} 离子结合的必要基团。每个锌指结构有 1 个 α 螺旋。N 端是在进化上变异度最高的部分,长度和序列在不同受体间有很大的差异。但是,

对于大多数受体来说，转录激活功能(AF-1)都位于 N 端，而且这种激活作用不依赖激素的存在。N 端的 α 螺旋为识别螺旋区域，通过氢键与激素反应元件（HRE）的碱基结合。C 端在进化上高度保守且具有多种功能：与激素结合、转录激活（依赖激素结合 AF-2）、转录抑制（也称为沉默）、核定位以及二聚化。配体结合区(LBD)的三维结构大致相同，都是由 11~13 个 α 螺旋组成。一旦和配体结合，热休克蛋白（HSP）的位置发生明显改变，这对 NR 的转录活性是必须的^[5]。如雌激素（ER）的选择性拮抗剂 Tamoxifen 和 ER 结合时引起 HSP 变位，但变位的方向不同，使得共激活因子不能与 ER 结合^[6]。

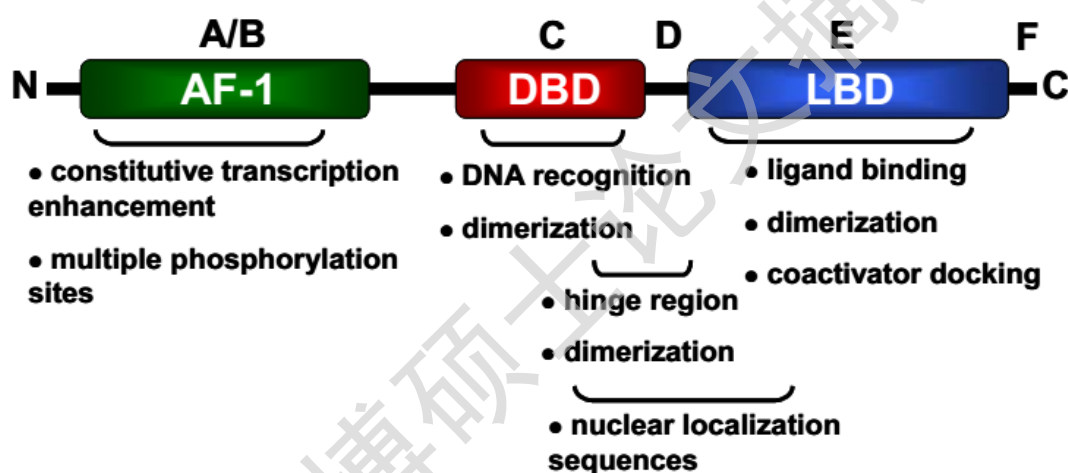


图1.1 核受体结构示意图 引自 Moore et al. 2006

1.1.2 核受体的调节

近年来已发现 300 多种辅调节因子，参与核受体对基因表达的调控^[7]，辅调节因子按其作用可分为辅激活子（coactivator）和辅抑制子（corepressor），均具有多种功能各异的蛋白质，分别汇聚于核受体上构成不同复合体。核受体辅激活因子（Nuclear receptor Coactivator）：通过 NR box（LXXLL，L代表亮氨酸，X代表任何氨基酸）与核受体相结合，以激活核受体或通用转录因子^[7]。如 E6AP（E6-associated protein）及 RPF-1（Retina-derived POU domain factor 1）具有 E3 泛素蛋白连接酶活性，它们可促使原附着在核受体或启动子上的抑制蛋白经泛素化蛋白降解途径降解，从而激活核受体；高迁移率族蛋白-1（High mobility group

protein-1,HMG-1)作为类固醇类核受体的辅激活因子,可加强核受体与 DNA 的结合;辅激活因子 BRG-1 (Brahma-related gene-1)则含有内在 ATP 酶活性,可使染色质结构重建。最近发现有一种本质为 RNA 的辅激活子 SRA (Steroid receptor RNA activator),它主要与类固醇激素受体的 AF-1 相结合,并起激活作用^[8]。核受体辅抑制因子 (Nuclear receptorCorepressor):使组蛋白脱乙酰基,加强组蛋白与 DNA 的结合,使染色质紧密化而不利于转录;或者是核受体上与辅抑制子结合的区段同样是辅激活子所识别和结合的区段,辅抑制子与核受体的结合可排斥辅激活子与核受体的结合。如辅抑制子 NCoR (Nuclear receptor corepressor) 及 SMRT (Silencing mediator for retinoid and thyroid hormone receptor)均可特异地与 TR α 及 RAR 相结合,以加强其转录抑制作用^[9]。NCoR/SMRT 常与转录抑制因子 Sin3A 配合,募集另一辅抑制子组蛋白脱乙酰基酶 (Histone deacetylase,HDAC) 及其它相关蛋白,形成阻抑复合体,协同加强转录抑制^[10]。

1.2 SRC 家族及其生物学特性

1.2.1 SRC 家族的分类

SRC 家族可分为 3 个亚类, SRC-1、SRC-2、SRC-3,它们的特点是与核受体相互作用并且对这些受体的配体依赖性转录有活化作用。SRC-1 又称为 Full-length SRC-1 (F-SRC-1)或 Nuclear receptor coactivator-1 (NCoA-1),是用 PR、ER 或 TR 为诱饵,通过酵母双杂交系统从 cDNA 文库克隆并鉴定的蛋白质^[11,12,13]。通过体外的蛋白与蛋白的相互作用分析及瞬时转染实验表明 SRC-1 能与多种核受体相互作用并激活核受体的转录活性,如 PR、GR、ER、TR、RXR^[11]、肝细胞核因子-4 (Hepatocyte Nuclear Factor 4,HNF-4)^[14]等。另外, Lee 等研究表明 SRC-1 也能够激活其它一些转录因子,如 AP-1、血清应答因子 (Serum Response Factor, SRF) 及 NF- κ B 等^[15-17]。SRC-2 又称 Glucocorticoid receptor-interacting protein-1 (GRIP-1)、Transcriptional intermediary factor-2 (TIF-2) 或 Nuclear receptor coactivator-2 (NCoA-2),是用 GR 和 ER 的 LBD 区为诱饵被发现的^[18,19]。进一步的研究表明, SRC-2 能与 GR、ER、AR、RAR α 、PR 等

相互作用, 并且能有效的反式激活 GR、ER、AR^[18,19]。另外, 与 SRC-1 相似, SRC-2 对 HNF-4 也有激活作用^[14]。SRC-3 又称 p300/CBP interacting- protein (p/CIP)、Receptor associated coactivator-3 (RAC-3)、Acetyltransferase (ACTR)、Amplified in breast cancer 1 (AIB1)、Thyroid hormone receptor activator molecule-1 (TRAM-1) 或 Nuclear receptor coactivator-3 (NCoA-3), 由 6 个不同的研究小组分别鉴定发现^[20-25]。SRC-3 也可以与多种核受体相互作用并起反式激活作用, 如 RAR、TR、RXR、GR、PR 及 ER 等^[21-24]。

1.2.2 SRC 基因结构

SRC 可分为 3 个结构域: N 端的 bHLH/PAS (basic-helix –loop- helix /Per/ARNT/Sim) 结构区, 中间的 NR 相互作用结构域 (NR interaction domain, NID)、C 端结构域 (见图1.2)。

一般 SRC 家族的 NID 结构域中含有 3 组 LXXLL 的重复序列元件, LXXLL 元件是 SRC 家族中相对保守的序列, 在与配体—受体复合物的相互作用中有着重要作用^[20,22]。对 LXXLL 元件的二级结构分析表明, 它是一个两性 α 螺旋结构, L 分布在螺旋体的一侧, 构成一疏水面。研究认为 SRC 中不同的 LXXLL 元件作用于不同的受体^[26]。Heery 等通过对 SRC-1 中 LXXLL 元件关键残基突变, 发现 SRC-1 与 ER 的 AF-2 相互作用及辅激活作用基本消失^[27]。后来研究证明了激活剂 DES (Diethylstilbestrol)—ER α 复合物及 SRC-2 中 LXXLL 元件的晶体结构^[28], 与 ER— α 复合物的晶体结构相似^[29], DES—ER α 复合物中的 H12 也是覆盖在配体结合孔上, 而 SRC-2 是通过 LXXLL 元件的 α 螺旋与 LBD 中由 H3-H5、H12 等构成的疏水性孔相结合。与上述相反, ER α 与拮抗剂 OHT (4-hydroxy- tamoxifen) 或 RAL (Raloxifene) 结合后, H12 并不是在配体结合孔上, 而是与辅激活子的结合区域结合, 从而阻断了与辅激活子的结合^[28,30]。

SRC 分子中 C 端结构域包含 2 个转录激活域 (Transcriptional activation Domain, AD) AD1 和 AD2。AD1 是募集 CBP/p300 及 p/CA Fp300/CBP-associated factor) 等具有 HAT 活性的辅激活因子^[22], 这一区域包括多个 LXXLL 元件, 因为这些元件在 SRC 与 CBP/ p300 的相互作用中有着重要作用,

所以 LXXLL 元件的突变会破坏两者的作用，从而削弱了 SRC 的反式激活作用^[31]，AD2 主要与组蛋白甲基转移酶相互作用，如辅激活蛋白关联精氨酸甲基转移酶（Coactivator-associated arginine methyltransferase1, CARM1）、蛋白质精氨酸甲基转移酶（Protein arginine methyltransferase 1, PRMT1）^[32-34]，因此 SRC 可将组蛋白甲基转移酶募集到增强子/启动子的这一特性说明 SRC 可能在核受体介导的转录起始过程中染色体的重构或转录复合体的装配都有着重要作用。

N 端的结构含有基本的 bHLH/PAS 结构域，它是 SRC 家族中最保守的结构域，SRC 成员中大约有 75% 的相似性，bHLH/PAS 结构域是核受体复合物中蛋白相连的关键结构域，同时它能使 SRC 蛋白二聚化，促进目的基因的转录。尽管如此，单个游离细胞基因的转录分析得出 bHLH/PAS 可以使转录达到最大化，但是缺少 bHLH/PAS 转录仍能进行。例如敲除 SRC-1 N 端区域，仍可以共激活依赖孕激素的转录，最近的研究也显示 bHLH/PAS 有双重核定位功能，这使 SRC 蛋白能游走于细胞核和细胞质中。突变 bHLH/PAS 两个关键残基中的赖氨酸和精氨酸可以阻滞 SRC 蛋白与 DNA 的锚定。

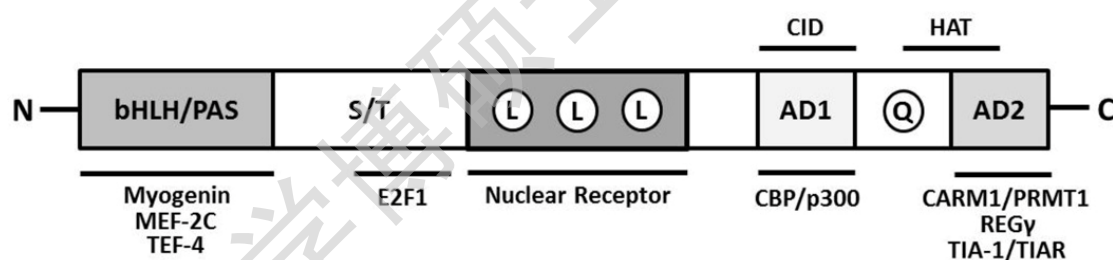


图1.2 SRC家族的结构模式图 引自 Jean Ching-Yi Tien et al. 2012

1.2.3 SRC 蛋白的修饰

SRC 表现出的功能特异性及多样性与其翻译后的修饰是密切相关的。1) 磷酸化 (Phosphorylation)：SRC 蛋白的磷酸化可引起 SRC 中特定位点的构象变化，形成与其它蛋白相互作用的特异构象，从而表现出 SRC 具有选择性和时间性的转录调控活性^[35-38]。目前，已经鉴定出 SRC-1、SRC-2 及 SRC-3 都存在不同的磷酸化位点。SRC-1 目前已知的磷酸化位点有 7 个，分别是 Ser-372、Ser-395、Ser-517、Ser-569、Ser-1033、Thr-1179 及 Ser-1185，这些磷酸化位点都具有一个脯氨酸导引蛋白质激酶 (Proline directed protein-kinase, PDPK) 共有序列，其中 Ser-372、Ser-395、Ser-517 及 Ser-569 四个位点在丝氨酸/苏氨酸富

含区内或附近, 而 Ser-1033、Thr-1179 及 Ser-1185 三个位点在 C 端的谷氨酰胺富含区内^[35,36]。到目前为止, SRC-2 仅发现一个磷酸化位点 Ser-736, 位于 NID 区域内^[37]。SRC-3 含有 6 个磷酸化位点, 它们分别是 Thr-24、Ser-505、Ser-543、Ser-857、Ser-860 及 Ser-867, 其中 Ser-857、Ser-860 及 Ser-867 位于 C 端的 AD1 区域内, Ser-505 在丝氨酸/苏氨酸富含区内, 而 Thr-24 在 N 端的 bHLH/PAS 区域内^[36]。2) 泛素化 (Ubiquitination): 大量的研究已表明 SRC 可以通过泛素-蛋白酶体系统降解。在蛋白酶体抑制剂的作用下, SRC-1、SRC-2 及 SRC-3 的稳定性都会提高并且表现出更高的转录活性^[39-41]; E1 连接酶及 E2 连接酶也是 SRC-1、SRC-2 及 SRC-3 降解必需复合物^[39]; 另外 E6AP 泛素连接酶可以与 SRC-3 相互作用调节 ER α 的稳定性及转录活性^[42], 进一步的研究发现在无血清培养基或细胞密度较高等条件下 E6AP 与 SRC-3 的 C 端区域相互作用而促进 SRC-3 的降解^[43]。3) 类泛素化 (Sumoylation): PIAS (Protein inhibitor of activated STAT) 家族在类泛素化中起着 E3 连接酶的作用^[44], 同时研究发现 PIAS 家族中的 PIASx、PIAS1 及 PIAS3 能够与 NR 及 SRC-2 相互作用^[45], 说明 SRC-2 可能是类泛素化的底物, 后期的研究表明 PIASx 主要是通过 AD2 与 SRC-2 相互作用^[46], 随后的研究又确定了 SRC 的类泛素化位点, 主要集中在 SRC 的 NID 区域。4) 乙酰化 (Acetylation): SRC-3 的 Lys-629 及 Lys-630 位点可以被乙酰化, 当 CBP/p300 对组蛋白乙酰化并成功的激活基因的转录后会对 SRC-3 进行乙酰化, 从而使 SRC-3 的电荷发生变化并与 NR 分离, 最终阻止其转录活性。因此 SRC 的乙酰化修饰在抑制 SRC 发挥辅激活子作用过程中起着重要作用。它可有效的抑制 SRC 过激的发挥其作用^[47]。5) 甲基化 (Methylation): 蛋白的甲基化修饰也是一种重要的蛋白翻译后修饰方式, 除了可以对组蛋白进行甲基化修饰并促进转录活性外, 也能够对 CBP/p300 及 SRC 样的辅激活子进行甲基化修饰而抑制其活性^[48,49,50]。目前仅对 SRC-3 的甲基化进行了比较深入的研究, 发现 SRC-3 的 Arg-1171 可以被甲基化^[49], 进一步研究表明 SRC-3 Arg-1163~Arg-1195 及 Arg-839~Arg-961 区域也是甲基化的主要区域^[50]。与乙酰化修饰相似的是 SRC-3 的甲基化也可以抑制其转录活性, 主要机理是 SRC-3 被甲基化修饰后将促进其降解并减弱其与 CBP 和 CARM1 的相互作用^[49,50]。

1.3 SRC-3 的生物学性质

1.3.1 SRC-3 与肿瘤

SRC-3 与人体多种疾病相关，如代谢综合征和癌症^[51,52,53]，特别在乳腺癌中，SRC-1 和 SRC-3 高度表达。Torres-Arzayus 等人利用小鼠乳腺肿瘤病毒（MMTV）转入 SRC-3 转基因小鼠体内，结果发现 SRC-3 在乳腺、肺脏、脑、肝等组织中高度表达，发生乳腺癌及其他肿瘤的概率明显升高。在高表达 SRC-3 的 145 只小鼠中，有 48 例乳腺癌，42 例垂体腺瘤，18 例子宫平滑肌肉瘤，18 例肺腺癌，和 6 种其它类型的肿瘤。而用乳腺肿瘤病毒转入野生型小鼠中，只有 3 只小鼠发生肺癌和 2 只小鼠发生脑垂体瘤^[54]。进一步研究表明 SRC-3 能与 Ets 转录因子，PEA3 一起共同激活细胞内金属蛋白酶 2（MMP2）和金属蛋白酶 9（MMP9）启动子，从而促进乳腺癌肺转移^[55]。Anzick 等人的研究中发现，约 5%--10% 的乳腺癌患者中 SRC-3 的基因表达高于正常人^[23]。Bouras 等人和赵等人的研究发现约有 30%--60% 的乳腺癌患者 SRC-3mRNA 的转录水平高于正常人^[56,57]。虽然有样本量的差异和参数估计得不同，但我们仍能得出 SRC-3 在乳腺癌的发生、发展和乳腺癌的内分泌治疗中起到一定的作用。SRC-3 的表达量越高，肿瘤越大，恶性程度越高，预后越差^[58]。特别是合并有 Her2 阳性的乳腺癌患者^[59]。因此，SRC-3 可以作为乳腺癌的诊断和预后的一个指标。

除了乳腺癌之外，SRC-3 在肺癌、前列腺癌，脑膜瘤，结直肠癌，胰腺癌中高度表达^[55,58]。SRC-3 可以激活雄激素受体，使其在前列腺癌中高度表达，且表达量的高低与肿瘤的分级和预后有直接关系^[60]。在大多数孕激素受体（PR）阳性的脑膜瘤、10-35% 的大肠癌和 2/3 所测试胰腺癌细胞株中都高表达 SRC-3、SRC-1、SRC-2^[61,62]。此外，它的表达增加可以促进胰腺癌的进展^[63]。最近，已经有一些报道 SRC-3 在肺癌的发生发展中起重要的作用。He 等人通过免疫组化的方法和基因扩增荧光原位杂交方法观察 SRC-3 蛋白在非小细胞肺癌的表达，其中有 48.4% 非小细胞肺癌的 SRC-3 蛋白高表达和 8.2% 非小细胞肺癌 SRC-3 的基因增多^[64]。

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.